目　次

2.6.6　毒性試験の概要文 3
2.6.6.1　まとめ 3
2.6.6.2　単回投与毒性試験 10
2.6.6.3　反復投与毒性試験 11
2.6.6.4　遺伝毒性試験 16
2.6.6.5　がん原性試験 19
2.6.6.6　生殖発生毒性試験 22
2.6.6.7　局所刺激性試験 28
2.6.6.8　その他の毒性試験 29
2.6.6.9　考察及び結論 40
2.6.6.10　図表 45
2.6.6.11　文献 46

略号一覧

略号	内容
AUC	Area under concentration-time curve、血漿中濃度－時間曲線下面積
C_{max}	Maximum concentration、最高血漿中濃度
DMSO	ジメチルスルホキシド
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay
FAO	国連食糧農業機関
GLP	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
SRBC	Sheep red blood cells、ヒツジ赤血球
TK	トキシコキネティクス
WHO	世界保健機関

2.6.6 毒性試験の概要文

短期の一般毒性試験及び *in vitro* 試験では、被験物質として AJM300 を用いた。AJM300 は難水溶性であるため、一部の毒性試験の媒体にはポリエチレングリコール（PEG）400 とプロピレングリコール（PG）の容量比およそ 1 : 1 の混合液に AJM300 の 1 モルに対して 2.4 モルとなるように塩酸を添加した AJM300 の可溶化液（PEG/PG・塩酸液）を、*in vitro* 試験の媒体には DMSO を用いた。その結果、一般毒性試験において PEG/PG・塩酸液由来の毒性が見られたため、長期投与可能な動物用製剤の開発を行った。その後に実施した安全性試験では、被験物質として、AJM300、メチルセルロース及びクロスカルメロースナトリウムを[redacted]の割合で混合した製剤（AJM300M1 製剤）を用いた。

2.6.6.1 まとめ

AJM300 の安全性試験として、単回投与毒性試験、反復投与毒性試験、遺伝毒性試験、がん原性試験、生殖発生毒性試験及びその他の毒性試験を実施した。

実施した安全性試験の一覧を表 2.6.6-1 に示した。

表 2.6.6-1 毒性試験一覧表

試験項目及び期間	動物種等	投与経路	被験物質
単回投与毒性試験	ラット	経口	AJM300
	イヌ	経口	AJM300
反復投与毒性試験　4 週間	ラット	経口	AJM300
4 週間（低用量）	ラット	経口	AJM300
26 週間	ラット	経口	AJM300M1 製剤
4 週間	イヌ	経口	AJM300
13 週間	イヌ	経口	AJM300M1 製剤
39 週間	イヌ	経口	AJM300M1 製剤
遺伝毒性試験			
復帰突然変異	ネズミチフス菌、大腸菌	*in vitro*	AJM300
染色体異常	CHL/IU 細胞※	*in vitro*	AJM300
in vivo 小核試験	ラット	経口	AJM300M1 製剤
in vivo 小核試験（高用量）	ラット	経口	AJM300M1 製剤
がん原性試験　13 週間（予備）	マウス	経口	AJM300M1 製剤
24 ヵ月	マウス	経口	AJM300M1 製剤
13 週間（予備）	ラット	経口	AJM300M1 製剤
24 ヵ月	ラット	経口	AJM300M1 製剤
生殖発生毒性試験			
受胎能及び初期胚発生（ICH 4.1.1）	マウス	経口	AJM300M1 製剤
胚・胎児発生（ICH 4.1.3）（予備）	マウス	経口	AJM300M1 製剤
胚・胎児発生（ICH 4.1.3）	マウス	経口	AJM300M1 製剤
胚・胎児発生（ICH 4.1.3）（予備）	ラット	経口	AJM300M1 製剤
受胎能及び胚・胎児発生（ICH 4.1.1＋ICH 4.1.3）	ラット	経口	AJM300M1 製剤
胚・胎児発生（ICH 4.1.3）（予備）	ウサギ	経口	AJM300M1 製剤
胚・胎児発生（ICH 4.1.3）	ウサギ	経口	AJM300M1 製剤
出生前・後発生及び母体機能（ICH 4.1.2）	ラット	経口	AJM300M1 製剤
その他の毒性試験			
免疫毒性試験（抗 SRBC 抗体産生能）	ラット	経口	AJM300M1 製剤
2 週間反復 TK 測定試験	マウス	経口	AJM300M1 製剤
2 週間反復 TK 測定試験	ラット	経口	AJM300M1 製剤

※：チャイニーズハムスターの肺由来線維芽細胞

実施した各試験より得られた主な所見を以下に示す。

2.6.6.1.1　単回投与毒性

強制経口投与におけるラットの概略の致死量は 1000 mg/kg 超、イヌの概略の致死量は 800 mg/kg 超であった。これらの試験において、ラットでは AJM300 投与の影響は認められなかったが、イヌでは 800 mg/kg 群の雌雄で嘔吐回数の増加と、雌で投与翌日の軽度の体重減少が認められた。

2.6.6.1.2　反復投与毒性

ラット 4 週間試験では、AJM300 を 60、250 及び 1000 mg/kg/day の用量で強制経口投与した。その結果、AJM300 投与の影響と考えられる死亡は認められず、一般症状、体重、摂餌量、眼底検査、尿検査、血液生化学的検査、解剖検査及び器官重量に AJM300 投与の影響は認められなかった。血液学的検査において、250 mg/kg 以上の群でリンパ球数の高値を伴う総白血球数の高値が観察された。また、病理組織学的検査において、60 mg/kg 以上の群で脾臓の辺縁帯における細胞数減少が観察された。これらの変化は AJM300 の活性代謝物である HCA2969 の薬理作用である α4 インテグリン阻害作用と関連した変化と考えられ、毒性とは判断しなかった。投与終了時に認められた変化は、いずれも休薬後に回復した。無毒性量は 1000 mg/kg/day 超と考えられた。

無影響量を検索する目的で追加実施したラット 4 週間試験（低用量）では、AJM300 を 15、30 及び 60 mg/kg/day の用量で強制経口投与した。その結果、AJM300 投与の影響と考えられる死亡は認められず、一般症状、体重、摂餌量、眼底検査、尿検査、血液生化学的検査、器官重量及び解剖検査に AJM300 投与の影響は認められなかった。病理組織学的検査において、脾臓の辺縁帯における細胞数減少はいずれも軽微ながら、雄では 15 mg/kg 以上、雌では 30 mg/kg 以上の群に認められた。また、血液学的検査では、雄の 60 mg/kg 群において総白血球数、好中球数、リンパ球数、好酸球数及び好塩基球数が高値を示した。これらの変化はラット 4 週間試験と同様、AJM300 の活性代謝物である HCA2969 の薬理作用と関連した変化と考えられた。無影響量は 15 mg/kg/day 未満と考えられた。

ラット 26 週間試験では、AJM300M1 製剤を 30、100、300 及び 600 mg/kg/day の用量で強制経口投与した（用量は AJM300 換算）。その結果、いずれの群においても死亡は認められず、一般症状、体重、摂餌量、眼科学的検査、尿検査、血液生化学的検査、器官重量及び解剖検査に AJM300 投与と関連する変化は認められなかった。血液学的検査において、100 mg/kg 以上の群でリンパ球比率及び実数の高値を伴う総白血球数の高値がみられた他、病理組織学的検査では脾臓の辺縁帯における細胞数減少が 30 mg/kg 以上の群で認められた。これらの変化は AJM300 の活性代謝物である HCA2969 の薬理作用と関連した変化と考えられ、毒性とは判断しなかった。100 mg/kg 以上の群では分葉核好中球比率の低値も認められたが、リンパ球比率及び実数の高値を反映した相対的な変化と考えられた。また、白脾髄（辺縁帯を除く）細胞成分の増加が、雄では 30 mg/kg 以上、雌では 600 mg/kg 群に認められた。本変化の発生機序は明らかでないが、加齢に伴う白脾髄の退縮が抑制されたとも考えられ、その程度も軽微であることから、毒性学的意義はないものと判断した。投与終了時に認められた変化は、休薬後に回復又は回復傾向を示したことから、可逆性の変化と考えられた。無毒性量は 600 mg/kg/day 超と考えられた。

イヌ 4 週間投与試験では、AJM300 を 25、100 及び 400 mg/kg/day の用量で強制経口投与した。その結果、いずれの群においても死亡は認められず、一般症状、体重、摂餌量、眼科学的検査、心電図検査、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、器官重量、解剖検査及び病理組織学的検査に AJM300 投与の影響は認められなかった。無毒性量は 400 mg/kg/day 超と考えられた。

イヌ 13 週間試験では、AJM300M1 製剤を 100、300 及び 1000 mg/kg/day の用量で強制経口投与した（用量は AJM300 換算）。その結果、いずれの群においても死亡は認められず、一般症状、体重、摂餌量、尿検査、血液生化学的検査、器官重量及び解剖検査に AJM300 投与の影響は認められなかった。血液学的検査において、雌の 1000 mg/kg 群でリンパ球比率及び実数の高値、分葉核好中球比率の低値が認められた。リンパ球比率及び実数の高値については AJM300 の活性代謝物である HCA2969 の薬理作用と関連した変化と考え、毒性とは判断しなかった。分葉核好中球比率の低値については、リンパ球比率及び実数の高値を反映した相対的な変化と考えられた。また、病理組織学的検査では、肝臓に軽微な中心静脈周囲の細胞浸潤が雄では 1000 mg/kg 群、雌では 300 mg/kg 以上の群に認められた。これらは、AJM300 の投与に起因する変化であり、背景的に見られる変化の頻度が増加したものと考えられた。しかしながら、肝細胞に病理組織学的な異常はなく、さらに肝臓の障害を示唆する臨床検査値の変動も認められないことから、毒性学的な意義はないものと判断した。投与終了時に認められた変化は、いずれも休薬後に回復した。無毒性量は 1000 mg/kg/day 超と考えられた。

イヌ 39 週間試験では、AJM300M1 製剤を 30、100、300 及び 1000 mg/kg/day の用量で強制経口投与した（用量は AJM300 換算）。その結果、いずれの群においても死亡は認められず、一般症状、体重、摂餌量、眼科学的検査、心電図検査、尿検査、血液学的検査、血液生化学的検査、解剖検査及び器官重量に AJM300 投与の影響は認められなかった。病理組織学的検査では、背景的に見られる変化である肝臓の中心静脈周囲の細胞浸潤の程度及び頻度が 300 mg/kg 以上の群で増加した。これらは AJM300 の投与に起因した変化と考えられた。しかしながら、肝細胞に病理組織学的な異常はなく、さらに肝臓の障害を示唆する臨床検査値の変動も認められないことから、毒性学的な意義はないものと判断した。無毒性量は 1000 mg/kg/day 超と考えられた。

2.6.6.1.3　遺伝毒性

細菌を用いた復帰突然変異試験において変異原性はなく、ほ乳類の培養細胞を用いた染色体異常試験においても染色体異常誘発性は認められなかった。また、ラットを用いた *in vivo* 小核試験において小核誘発作用は認められなかった。

2.6.6.1.4　がん原性

マウスがん原性試験では、AJM300M1 製剤を 30、100 及び 300 mg/kg/day の用量で 24 ヵ月間強制経口投与した（用量は AJM300 換算）。その結果、特定の腫瘍あるいは非腫瘍性病変による死亡又は瀕死動物が増加することはなく、一般症状、体重、摂餌量、血液学的検査、解剖検査及び病理組織学的検査に AJM300 投与の影響は認められなかった。また、生存率に対する影響もなかった。病理組織学的検査において、本試験でみられた腫瘍はいずれも自然発生腫瘍であり、AJM300 投与に起因した腫瘍の発生はなかった。非腫瘍性病変では、いずれの器官・組織にも AJM300 投

与によると考えられる変化は認められなかった。以上より、AJM300 はマウスに対して発がん性を示さないと判断した。

ラットがん原性試験では、AJM300M1 製剤を 30、100 及び 300 mg/kg/day の用量で 24 ヵ月間強制経口投与した（用量は AJM300 換算）。その結果、特定の腫瘍あるいは非腫瘍性病変による死亡又は瀕死動物が増加することはなく、一般症状、体重、摂餌量、血液学的検査及び解剖検査に AJM300 投与の影響は認められなかった。また、生存率に対する影響もなかった。病理組織学的検査において、本試験でみられた腫瘍はいずれも自然発生腫瘍であり、AJM300 投与に起因した腫瘍の発生はなかった。非腫瘍性病変では、各投与群で脾臓の辺縁帯における細胞数減少と白脾髄（辺縁帯を除く）細胞成分の増加が認められた。これらの変化は、先に実施した 26 週間反復経口投与毒性試験でも認められており、さらに長期間にわたりこれらの変化が持続してみられた本試験ではリンパ造血器系腫瘍の発生や免疫学的異常を示唆する病変の発生がないことから、脾臓における辺縁帯の細胞数減少と白脾髄（辺縁帯を除く）細胞成分の増加の毒性学的意義はほとんどないと考えられた。以上より、AJM300 はラットに対して発がん性を示さないと判断した。

2.6.6.1.5　生殖発生毒性

マウス受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験では、AJM300M1 製剤を 30、100、300 及び 600 mg/kg/day の用量で、雄には交配前 4 週間及び交配期間を経て解剖検査前日まで、雌には交配前 2 週間及び交配期間を経て交尾成立後 6 日まで強制経口投与した（用量は AJM300 換算）。親動物の一般毒性及び生殖機能に AJM300 投与の影響は認められなかった。初期胚発生に対しても AJM300 投与と関連する変化はみられなかった。また、生存胎児の外表検査、内臓検査、骨格検査及び骨化進行度に AJM300 投与と関連する変化はみられなかった。以上より、親動物の一般毒性、生殖機能及び初期胚発生に対する無毒性量はいずれも 600 mg/kg/day 超と考えられた。

マウス胚･胎児発生に関する予備試験では、AJM300M1 製剤を 30、100、300 及び 600 mg/kg/day の用量で、妊娠 6 日から 15 日まで強制経口投与した（用量は AJM300 換算）。母動物に及ぼす影響では、いずれの群においても死亡及び流・早産は認められず、AJM300 投与と関連する変化は認められなかった。胚・胎児発生に及ぼす影響では、着床後死亡数及び着床後死亡率の高値とこれに伴う生存胎児数の低値が 100 mg/kg 以上の群でみられた。また、左心房小型の出現率に関連した内臓異常の出現率の高値が 100 mg/kg 以上、雌胎児体重の低値が 600 mg/kg 群でみられた。以上より、AJM300 投与による胚・胎児発生に対する影響が 100 mg/kg/day 以上で確認された。

マウス胚･胎児発生に関する試験では、AJM300M1 製剤を 12、60、300 及び 600 mg/kg/day の用量で、妊娠 6 日から 15 日まで強制経口投与した（用量は AJM300 換算）。母動物に及ぼす影響では、いずれの群においても死亡及び流・早産は認められず、AJM300 投与と関連する変化は認められなかった。胚・胎児発生に及ぼす影響では、着床後死亡数及び着床後死亡率の高値とこれに伴う生存胎児数の低値が 600 mg/kg 群でみられた。また、左心房小型の出現率の高値及び胸骨分節糸状癒合の出現率の高値が 300 mg/kg 以上の群で、腸短小（結腸）の出現率の高値及び胸骨分節配列異常の出現率の高値が 600 mg/kg 群でみられた。以上より、母動物の一般毒性及び生殖機能に対する無毒性量は 600 mg/kg/day 超、胚・胎児発生に対する無毒性量は 60 mg/kg/day と考えられた。

ラット受胎能及び胚･胎児発生に関する試験では、AJM300M1 製剤を 30、100 及び 300 mg/kg/day の用量で交配前 2 週間及び交配期間を経て、雄には解剖検査前日まで、雌には妊娠 17 日まで強制経口投与した（用量は AJM300 換算）。その結果、雌雄親動物の一般毒性及び生殖機能並びに胚・胎児発生に対し AJM300 投与による影響は認められず、無毒性量は 300 mg/kg/day 以上と考えられた。

ウサギ胚・胎児発生に関する試験では、AJM300M1 製剤を 30、100 及び 300 mg/kg/day の用量で妊娠 6 日より 18 日まで強制経口投与した（用量は AJM300 換算）。その結果、母動物の一般毒性について、300 mg/kg 群において、摂餌量の低値及び排糞量の減少が認められた。また、顕著な摂餌量の低値を示し、体重及び排糞量が減少した 1 例が流産した。流産動物の血液学的検査では白血球数の高値が認められたほか、解剖検査では胃粘膜の暗赤色巣及び肝臓の白色化、胃及び肝臓の癒着、更に胆嚢の肥大がみられた。この流産は AJM300 投与の影響による母動物の一般状態の悪化に伴う二次的な変化と考えられた。流産動物以外では、解剖検査において AJM300 投与による影響は認められなかったが、血液学的検査において赤血球数の低値が観察された。300 mg/kg 群で認められたこれらの所見については AJM300 投与による毒性と判断した。血液学的検査ではさらに、300 mg/kg 群で総白血球数及びリンパ球比の高値のほか、偽好酸球比の低値が認められた。100 mg/kg 群では総白血球数の高値が認められた。これらの変化は AJM300 の活性代謝物である HCA2969 の薬理作用と関連した変化と考えられ、毒性とは判断しなかった。母動物の生殖機能及び胚･胎児発生については AJM300 投与の影響は認められなかった。以上より、無毒性量は母動物の一般毒性に関して 100 mg/kg/day、母動物の生殖機能及び胚･胎児発生に関して 300 mg/kg/day 超と考えられた。

ラット出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能に関する試験では、AJM300M1 製剤を 30、100 及び 300 mg/kg/day の用量で妊娠 7 日から授乳 20 日まで強制経口投与した（用量は AJM300 換算）。その結果、妊娠及び授乳期の母動物、受胎産物及び出生児の発生に AJM300 投与の影響は認められず、無毒性量は 300 mg/kg/day 超と考えられた。

2.6.6.1.6　その他の毒性試験

(1)　ラットを用いたヒツジ赤血球（SRBC）に対する特異抗体産生能

AJM300M1 製剤を 30、100 及び 300 mg/kg/day の用量で 4 週間強制経口投与し、ヒツジ赤血球（SRBC）に対する特異抗体産生能を評価した（用量は AJM300 換算）。その結果、いずれの群においても死亡は認められず、一般症状、体重、血液学的検査及び解剖検査に AJM300 投与と関連する変化は認められなかった。また、免疫機能に関連する器官である胸腺及び脾臓の重量に変化はなく、抗 SRBC 抗体産生能にも影響はなかった。なお、脾臓の病理組織学的検査では 30 mg/kg 以上の群で辺縁帯の細胞数減少が観察された。以上より、AJM300 は SRBC に対する特異抗体産生能に影響を与えないと考えられた。

(2)　代謝物の安全性評価

ヒトにおける AJM300 の主要代謝物は HCA2969、HCA3053（M-I）、HCA3047（M-II）及び HCA2969 のグルクロン酸抱合体（HCA2969-gluc）である。HCA2969 の血漿中濃度は、実施した AJM300 の毒性試験において測定しており、その安全性が評価されている。M-I、M-II 及び HCA2969-gluc の

血漿中濃度は、ラット及びマウスに毒性試験の最高用量（300 もしくは 600 mg/kg）を 2 週間反復投与したトキシコキネティクス試験で測定し、当該試験における血漿中 AUC と薬物相互作用試験（AJM300/CP7）におけるヒト 2 週間反復投与時の血漿中 AUC とを比較した。その結果、マウス及びラットに 300 及び 600 mg/kg を投与した時の M-I 及び M-II の血漿中 AUC は、ヒトの M-I 及び M-II の血漿中 AUC を超えていた。また、マウスに 600 mg/kg、ラットに 300 及び 600 mg/kg を投与した時の HCA2969-gluc の血漿中 AUC は、ヒトの HCA2969-gluc の血漿中 AUC の 50%とほぼ同等もしくはそれ以上であった。毒性評価において、300 mg/kg はラットの生殖発生毒性試験並びにラット及びマウスのがん原性試験における最高用量、600 mg/kg はラット 26 週間反復試験及びマウス生殖発生毒性試験における最高用量である。このことから、HCA2969-gluc の毒性の特徴づけは、実施した AJM300 の反復投与毒性試験、生殖発生毒性試験及びがん原性試験で少なくとも 1 種の動物で十分になされていると考えた。

(3) 不純物の安全性評価

安全性の確認が必要とされる閾値以上の規格値が設定されている不純物として、 類縁物質C※ 、HCA2969 及び M-I が該当した。HCA2969 及び M-I は、それぞれ AJM300 の代謝物であり、いずれもヒト、ラット及びイヌの血漿中で共通にみられていることから、実施した毒性試験において安全性が評価されていると判断した 類縁物質C※ は毒性試験で使用した被験物質中に含まれていることから、AJM300 の無毒性量から算出された 類縁物質C※ の無毒性量と、規格値の上限（[redacted]%）まで 類縁物質C※ が原薬に含まれると仮定した場合のヒトの推定 類縁物質C※ 曝露量（ヒトの体重を 60 kg とした場合、最大で[redacted] mg/kg/day に相当）とを比較した。その結果、類縁物質C※ の無毒性量はヒトの推定 類縁物質C※ 曝露量以上であった。また、変異原性及び発がん性を示さなかった AJM300 の最高用量から算出された 類縁物質C※ の用量とヒトの推定 類縁物質C※ 曝露量とを比較した。その結果、変異原性及び発がん性を示さなかった 類縁物質C※ の用量はヒトの推定 類縁物質C※ 曝露量以上であった。以上より、類縁物質C※ の安全性については確認されたと考え、新たな試験は実施しなかった。

(4) 光毒性試験

AJM300 は、波長 290～700 nm においてモル吸光係数が 1000 L mol^{-1} cm^{-1} を上回ったが、ラット及びイヌを用いた評価において、眼球への移行は低く、皮膚への残留性は認められなかったことから、AJM300 の光毒性について懸念はなく、更なる光毒性評価は必要ないと考え、新たな試験は実施しなかった。

(5) 新添加物の安全性評価

AJM300 製剤の予定される 1 日最大臨床用量に含有されるメチルセルロースの 1 日最大使用量は[redacted] mg（ヒトの体重を 60 kg とした場合の用量は[redacted] mg/kg）となり、1 日摂取量において医薬品添加物としての使用前例（607.5 mg）を上回ることから新添加物に該当するため、その安全性について考察した。

メチルセルロースの安全性については、AJM300M1 製剤を投与した毒性試験のプラセボ群（高用量群と同じ量のメチルセルロースとクロスカルメロースナトリウムを投与）より得られた結果から評価されている。さらに、FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議（JECFA）において食品添

※新薬承認情報提供時に置き換え

加物としての安全性が評価されている。これらを参考に、医薬品添加物としての使用前例を上回る量のメチルセルロースを投与した際の安全性について評価を行った。

その結果、AJM300M1 製剤を投与した毒性試験のプラセボ群の評価において、反復投与毒性試験におけるメチルセルロースの無毒性量は、マウス（13 週間）で 300 mg/kg/day 超、ラット（26 週間）で 600 mg/kg/day 超、イヌ（39 週間）で 1000 mg/kg/day 超と考えられた。また、小核試験の結果は陰性であり、ラット胚・胎児発生に関する試験におけるメチルセルロースの無毒性量はラットで 300 mg/kg/day 超と考えられた。また、JECFA による評価では、単回投与毒性、反復投与毒性、遺伝毒性、がん原性及び生殖発生毒性の結果から、メチルセルロースの ADI（一日最大許容摂取量）は特定しない（not specified）とされている。

以上より、メチルセルロースを 1 日最大[redacted] mg（[redacted] mg/kg/day）服用することによる安全性上の問題はないと考えられた。

2.6.6.2　単回投与毒性試験

2.6.6.2.1　ラット経口単回投与毒性試験

〔概要表番号：2.6.7.5、第 4 部資料番号：4.2.3.1-1（評価）〕

1 群雌雄各 4 例の SD ラットに PEG/PG・塩酸液に溶解した AJM300 を強制経口投与した。用量は技術的に投与可能な最大容量である 10 mL/kg と AJM300 の調製可能な最大濃度（100 mg/mL）から 1000 mg/kg を高用量とし、以下 500 及び 250 mg/kg を設定した。対照群には高用量群と同じ濃度となるように塩酸を添加した PEG/PG・塩酸液を同様に投与し、さらに無処置群も設定した。

いずれの群においても死亡は認められず、一般症状、体重及び解剖検査に AJM300 投与の影響は認められなかった。

媒体投与の影響として、無処置群以外の群のほぼ全例において、下腹部の汚れや糞によるケージの汚れといった便性状の変化を示唆する変化が投与翌日に観察された。

以上の結果から、概略の致死量は 1000 mg/kg 超と考えられた。

2.6.6.2.2　イヌ経口単回投与毒性試験

〔概要表番号：2.6.7.5、第 4 部資料番号：4.2.3.1-2（評価）〕

1 群雌雄各 1 例のビーグル犬に PEG/PG・塩酸液に溶解した AJM300 を強制経口投与した。用量は媒体の影響による嘔吐等が認められることから 4 mL/kg を投与可能な最大容量とし、AJM300 の調製可能な最大濃度（100 mg/mL）から、1 回投与での投与可能な最大量は 400 mg/kg となったが、できる限り用量を高めるために、400 mg/kg を 6 時間の間隔で 2 回投与する 800 mg/kg を高用量に設定した。また、400 mg/kg の 1 回投与を中用量とし、低用量に 200 mg/kg を設定した。対照群には中用量群と同じ濃度となるように塩酸を添加した PEG/PG・塩酸液を 2 回投与した。

いずれの群においても死亡は認められず、摂餌量、解剖検査及び器官重量に AJM300 投与の影響は認められなかった。

一般症状において、対照群を含む各投与群に嘔吐が認められたが、投与当日の 800 mg/kg 群の嘔吐回数は、雌雄共に対照群よりも多い傾向であった。また、雌の 800 mg/kg 群では投与翌日に軽度の体重減少が認められた。

以上の結果から、概略の致死量はイヌにおける経口投与で 800 mg/kg（400 mg/kg×2 回）超と考えられた。

2.6.6.3 反復投与毒性試験

2.6.6.3.1 ラット経口 4 週間反復投与毒性試験

〔概要表番号：2.6.7.7.1、第 4 部資料番号：4.2.3.2-1（評価）〕

雌雄の SD ラットに PEG/PG・塩酸液に溶解した AJM300 を 1 日 1 回 4 週間強制経口投与した。用量は技術的に投与可能な最大量である 1000 mg/kg/day を高用量とし、以下 250 及び 60 mg/kg/day を設定した。対照群には高用量群と同じ濃度となるように塩酸を添加した PEG/PG・塩酸液を同様に投与した。投与期間終了時に解剖検査を行う動物を 1 群雌雄各 10 例、また対照群と 1000 mg/kg 群では、回復性を検討するため、投与後 2 週間休薬させる動物を雌雄各 6 例設けた。さらに、AJM300 投与群に TK サテライト群を設定し、同様に AJM300 を 1 群雌雄各 12 例に投与し、AJM300 及びその活性代謝物である HCA2969 について血漿中濃度を測定した。

AJM300 及び HCA2969 の血漿中濃度は、C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$ 共に用量の増加に従って増加した。

AJM300 投与の影響と考えられる死亡は認められず、一般症状、体重、摂餌量、眼底検査、血液生化学的検査、尿検査、器官重量及び解剖検査に AJM300 投与の影響は認められなかった。

血液学的検査において、250 mg/kg 以上の群でリンパ球数の高値を伴う総白血球数の高値が観察された。また、病理組織学的検査において、60 mg/kg 以上の群で脾臓の辺縁帯における細胞数減少が観察された。これらの変化は AJM300 の活性代謝物である HCA2969 の薬理作用である α4 インテグリン阻害作用と関連した変化と考えられ、毒性とは判断しなかった。

このほか、尿中 Cl が 60 及び 250 mg/kg 群では低値を、1000 mg/kg 群では高値を示したが、媒体に添加された塩酸量を反映したものであり、AJM300 投与の影響ではないと考えられた。また、対照群において、媒体投与の影響と考えられる死亡や一般症状の変化（肛門周囲の汚れ、口周囲の汚れ、腹部膨満及びラッセル音）が認められた。

投与終了時に認められた変化は、いずれも休薬後に回復した。

以上の結果から、本試験条件下において、AJM300 の無毒性量は 1000 mg/kg/day 超と考えられた。

2.6.6.3.2 ラット経口 4 週間反復投与毒性試験（低用量）

〔概要表番号：2.6.7.7.2、第 4 部資料番号：4.2.3.2-2（評価）〕

ラット 4 週間試験（2.6.6.3.1 参照）の低用量である 60 mg/kg/day において、AJM300 の活性代謝物である HCA2969 の薬理作用と関連した変化と考えられる脾臓の辺縁帯における細胞数減少が認められた。無影響量の確認のため、1 群雌雄各 10 例の SD ラットに PEG/PG・塩酸液に溶解した AJM300 を 1 日 1 回 4 週間強制経口投与した。用量は 60 mg/kg/day を高用量とし、以下 30 及び 15 mg/kg/day を設定した。対照群には高用量群と同じ濃度となるように塩酸を添加した PEG/PG・塩酸液を同様に投与した。また、AJM300 投与群に TK サテライト群を設定し、同様に AJM300 を 1 群雌雄各 12 例に投与し、AJM300 及びその活性代謝物である HCA2969 について血漿中濃度を測定した。

AJM300 及び HCA2969 の血漿中濃度について、C_{max} は用量と関連した増加は明らかでなかったが、$AUC_{0\text{-}24h}$ は用量の増加に従って増加した。

AJM300 投与の影響と考えられる死亡は認められず、一般症状、体重、摂餌量、眼底検査、血液生化学的検査、尿検査、器官重量及び解剖検査に AJM300 投与の影響は認められなかった。

病理組織学的検査において、雄では 15 mg/kg 以上、雌では 30 mg/kg 以上の群に、いずれも軽微ながら脾臓の辺縁帯における細胞数減少が認められた。また、血液学的検査では、雄の 60 mg/kg 群において総白血球数、好中球数、リンパ球数、好酸球数及び好塩基球数が高値を示した。これらの変化はラット 4 週間試験と同様、AJM300 の活性代謝物である HCA2969 の薬理作用である α4 インテグリン阻害作用と関連した変化と考えられた。

以上の結果から、本試験条件下において、AJM300 の無影響量は 15 mg/kg/day 未満と考えられた。

2.6.6.3.3　ラット経口 26 週間反復投与毒性試験

〔概要表番号：2.6.7.7.3、第 4 部資料番号：4.2.3.2-3（評価）〕

雌雄の SD ラットに注射用水に懸濁した AJM300M1 製剤を 26 週間強制経口投与した。用量は技術的に投与可能な最大容量である 10 mL/kg と調製可能な最大濃度（30 mg/mL）から、1 回投与での投与可能な最大量が 300 mg/kg となったが、できる限り用量を高めるために、300 mg/kg を 4 時間の間隔で 2 回投与する 600 mg/kg/day を最高用量に設定した。また、300 mg/kg の 1 日 1 回投与を高用量とし、以下 100 及び 30 mg/kg/day を設定した（用量は AJM300 換算）。対照群には注射用水を 1 日 1 回、プラセボ群には注射用水に懸濁した最高用量群と同じ量のメチルセルロース及びクロスカルメロースナトリウムを 1 日 2 回同様に投与した。1 群雌雄各 12 例に対しては投与期間終了時に解剖検査を行い、また対照群、プラセボ群、300 及び 600mg/kg 群では、回復性を検討するため、投与後 5 週間休薬させる動物を雌雄各 6 例設けた。さらに、AJM300M1 製剤投与群に TK サテライト群を設定し、同様に AJM300M1 製剤を 1 群雌雄各 4 例に投与して AJM300 及びその活性代謝物である HCA2969 について血漿中濃度を測定した。

AJM300 及び HCA2969 の血漿中濃度は、C_{max} 及び AUC（30、100 及び 300 mg/kg 群は $AUC_{0\text{-}24h}$、600 mg/kg 群は $AUC_{0\text{-}28h}$）共に用量の増加に従って増加した。

いずれの群においても死亡は認められず、一般症状、体重、摂餌量、眼科学的検査、血液生化学的検査、器官重量及び解剖検査に AJM300 投与と関連する変化は認められなかった。

血液学的検査において、100 mg/kg 以上の群にリンパ球比率及び実数の高値を伴う総白血球数の高値がみられた他、病理組織学的検査では脾臓の辺縁帯における細胞数減少が 30 mg/kg 以上の群に認められた。これらの変化は AJM300 の活性代謝物である HCA2969 の薬理作用である α4 インテグリン阻害作用と関連した変化と考えられ、毒性とは判断しなかった。100 mg/kg 以上の群では分葉核好中球比率の低値も認められたが、リンパ球比率及び実数の高値を反映した相対的な変化と考えられた。また、白脾髄（辺縁帯を除く）細胞成分の増加が、雄では 30 mg/kg 以上の群に、雌では 600 mg/kg 群に認められた。本変化の発生機序は明らかでないが、加齢に伴う白脾髄の退縮が抑制されたとも考えられ、その程度も軽微であることから、毒性学的意義はないものと判断した。

投与終了時に認められた変化は、休薬後に回復又は回復傾向を示したことから、可逆性の変化と考えられた。

このほか、尿検査において、雄の 600 mg/kg 群の尿の重量オスモル濃度が低値傾向を示した。本変化は、休薬後も継続して観察された。また、雄の 600 mg/kg 群の尿中 Na が高値を示した。しかしながら、血液生化学的検査及び病理組織学的検査において腎臓の異常は認められなかったことから、毒性学的意義はないものと判断した。

以上の結果から、本試験条件下において、AJM300 の無毒性量は 600 mg/kg/day 超と考えられた。なお、無毒性量における投与 26 週目の AJM300 の C_{max} は雄で 1155 ng/mL、雌で 2030 ng/mL、$AUC_{0\text{-}28h}$ は雄で 5120 ng·h/mL、雌で 10112 ng·h/mL であった。また、HCA2969 の C_{max} は雄で 8550 ng/mL、雌で 11587 ng/mL、$AUC_{0\text{-}28h}$ は雄で 51368 ng·h/mL、雌で 71680 ng·h/mL であった。

2.6.6.3.4　イヌ経口 4 週間反復投与毒性試験

〔概要表番号：2.6.7.7.4、第 4 部資料番号：4.2.3.2-4（評価）〕

雌雄のビーグル犬に PEG/PG・塩酸液に溶解した AJM300 を 1 日 1 回 4 週間強制経口投与した。用量は、イヌ経口単回投与毒性試験（2.6.6.2.2 参照）の結果を考慮し、技術的に投与可能な最大量である 400 mg/kg/day を高用量とし、以下 100 及び 25 mg/kg/day を設定した。対照群には高用量群と同じ濃度となるように塩酸を添加した PEG/PG・塩酸液を同様に投与した。1 群雌雄各 3 例に対しては投与期間終了時に解剖検査を行い、また対照群及び 400 mg/kg 群では、回復性を検討するため、投与後 2 週間休薬させる動物を雌雄各 2 例設けた。また、AJM300 投与群の AJM300 及びその活性代謝物である HCA2969 について血漿中濃度を測定した。

AJM300 及び HCA2969 の血漿中濃度について、C_{max} は 100 mg/kg まで用量の増加に従って増加したが、100 mg/kg 群と 400 mg/kg 群との間に明らかな差はなかった。$AUC_{0\text{-}24h}$ は用量の増加に従って増加した。

いずれの群においても死亡は認められず、一般症状、体重、摂餌量、眼科学的検査、心電図検査、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、器官重量、解剖検査及び病理組織学的検査に AJM300 投与の影響は認められなかった。

媒体投与の影響として、一般症状において、投与後の嘔吐及び便性状の異常が対照群を含む各投与群に、流涎が対照群及び 400 mg/kg 群に認められた。また、尿検査において、尿潜血、ケトン体及びビリルビンの陽性化が、対照群を含む各投与群に認められた。

投与終了時に認められたこれらの変化は、いずれも休薬後に回復した。

以上の結果から、本試験における無毒性量は 400 mg/kg/day 超と考えられた。

2.6.6.3.5　イヌ経口 13 週間反復投与毒性試験

〔概要表番号：2.6.7.7.5、第 4 部資料番号：4.2.3.2-5（評価）〕

雌雄のビーグル犬にゼラチンカプセルに充填した AJM300M1 製剤を 1 日 1 回、13 週間強制経口投与した。用量は AJM300M1 製剤をカプセル投与にて技術的に投与できる最大量である 1000 mg/kg/day を高用量とし、以下 300 及び 100 mg/kg/day を設定した（用量は AJM300 換算）。対照群にはカプセルのみを、プラセボ群には高用量群と同じ量のメチルセルロース及びクロスカルメロースナトリウムをカプセルに充填し、1 日 1 回同様に投与した。1 群雌雄各 3 例に対しては投与期間終了時に解剖検査を行い、また対照群、プラセボ群及び 1000 mg/kg 群では、回復性を検

討するため、投与後 13 週間休薬させる動物を雌雄各 2 例設けた。また、AJM300M1 製剤投与群の AJM300 及びその活性代謝物である HCA2969 について血漿中濃度を測定した。

AJM300 及び HCA2969 の血漿中濃度は、C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$ 共に用量の増加に従って増加した。

いずれの群においても死亡は認められず、一般症状、体重、摂餌量、血液生化学的検査、尿検査、器官重量及び解剖検査に AJM300 投与の影響は認められなかった。

血液学的検査において、1000 mg/kg 群の雌でリンパ球比率及び実数の高値、分葉核好中球比率の低値が認められた。リンパ球比率及び実数の高値については AJM300 の活性代謝物である HCA2969 の薬理作用である α4 インテグリン阻害作用と関連した変化と考え、毒性とは判断しなかった。分葉核好中球比率の低値については、リンパ球比率及び実数の高値を反映した相対的な変化と考えられた。また、病理組織学的検査では、肝臓に軽微な中心静脈周囲の細胞浸潤が、雄では 1000 mg/kg、雌では 300 mg/kg 以上の群に認められた。これらは、AJM300 の投与に起因する変化と考えられた。この細胞浸潤は、急性炎症を示唆する成熟した炎症性細胞が認められないことから、肝細胞の壊死や変性などの肝障害に対する反応ではなく、同様の所見は、この試験実施施設で過去に実施された他の試験における正常動物にも観察されていることからも、本試験の 300 mg/kg 以上の投与群では、背景的に見られる変化の頻度が増加したものと考えられた。しかしながら、肝細胞に病理組織学的な異常はなく、さらに肝臓の障害を示唆する臨床検査値の変動も認められないことから、毒性学的な意義はないものと判断した。

このほか、一般症状において、AJM300M1 製剤投与群で被験物質様物質が糞中に排泄されたが、大量に投与された被験物質の一部が未吸収のまま排泄されたものと推察され、AJM300 の毒性とは判断しなかった。また、嘔吐が対照群及びプラセボ群を含むすべての群で認められたが、投与期間を通じ発生は散発的であり、毒性とは判断しなかった。尿検査において、300 及び 1000 mg/kg 群の雄に尿中 Na の低値が認められたが、試験実施施設の背景データの範囲内の変化であり、変化の程度は小さいことから、毒性学的意義な意義はないものと判断した

投与終了時に認められた変化は、いずれも休薬後に回復した。

以上の結果から、本試験における無毒性量は 1000 mg/kg/day 超と考えられた。

2.6.6.3.6　イヌ経口 39 週間反復投与毒性試験

〔概要表番号：2.6.7.7.6、第 4 部資料番号：4.2.3.2-6（評価）〕

1 群雌雄各 4 例のビーグル犬にゼラチンカプセルに充填した AJM300M1 製剤を 1 日 1 回、39 週間強制経口投与した。用量は AJM300M1 製剤をカプセル投与にて技術的に投与できる最大量である 1000 mg/kg/day を高用量とし、以下 300、100 及び 30 mg/kg/day を設定した（用量は AJM300 換算）。対照群にはカプセルのみを、プラセボ群には高用量群と同じ量のメチルセルロース及びクロスカルメロースナトリウムをカプセルに充填し、1 日 1 回同様に投与した。また、AJM300M1 製剤投与群の AJM300 及びその活性代謝物である HCA2969 について血漿中濃度を測定した。

AJM300 及び HCA2969 の血漿中濃度は、C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$ 共に用量の増加に従って増加した。

いずれの群においても死亡は認められず、一般症状、体重、摂餌量、眼科学的検査、心電図検査、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、器官重量及び解剖検査に AJM300 投与の影響は認められなかった。

病理組織学的検査において、肝臓の中心静脈周囲の細胞浸潤が、30 mg/kg 群の雌 1 例、100 mg/kg 群の雄 1 例、300 mg/kg 群の雌雄各 3 例及び 1000 mg/kg 群の雌雄全例に認められ、AJM300 の投与に起因する変化と考えられた。同様の所見は、この試験実施施設で過去に実施された他の試験における正常動物にも観察されているものであり、本試験の 300 mg/kg 以上の投与群では、背景的に見られる変化の程度及び頻度が増加したと考えられた。しかしながら、肝細胞に病理組織学的な異常はなく、さらに肝臓の障害を示唆する臨床検査値の変動も認められないことから、毒性学的な意義はないものと判断した。

このほか、一般症状において、AJM300M1 製剤投与群で被験物質様物質が糞中に排泄されたが、大量に投与された被験物質の一部が未吸収のまま排泄されたものと推察され、AJM300 の毒性とは判断しなかった。また、嘔吐が対照群及びプラセボ群を含むすべての群で認められたが、発現頻度に用量との関連性がなく、投与期間の 10%未満にしか認められていないことから、毒性とは判断しなかった。血液生化学的検査では、第 26 及び 39 週にグルコースの低値が雌の 1000 mg/kg 群で認められたが、試験実施施設の背景データの範囲内の変化であり、変化の程度は小さいことから、毒性学的意義な意義はないものと判断した。

以上の結果から、本試験における無毒性量は 1000 mg/kg/day 超と考えられた。なお、無毒性量における投与 39 週目の AJM300 の C_{max} は雄で 8282 ng/mL、雌で 6552 ng/mL、$AUC_{0\text{-}24h}$ は雄で 77236 ng·h/mL、雌で 56408 ng·h/mL であった。また、HCA2969 の C_{max} は雄で 3473 ng/mL、雌で 2579 ng/mL、$AUC_{0\text{-}24h}$ は雄で 35726 ng·h/mL、雌で 27039 ng·h/mL であった。

2.6.6.4 遺伝毒性試験

2.6.6.4.1 *In vitro* 遺伝毒性試験

2.6.6.4.1.1 細菌を用いる復帰突然変異試験

〔概要表番号：2.6.7.8.1、第 4 部資料番号：4.2.3.3.1-1（評価）〕

ネズミチフス菌の TA98、TA100、TA1535、TA1537 株及び大腸菌の WP2*uvrA* 株を用い、代謝活性化系非存在下（-S9mix 法）及び存在下（+S9mix 法）の両方について、プレインキュベーション法により試験を実施した。

Assay 1（用量設定試験）では、AJM300 による試験菌株に対する生育阻害が、-S9mix 法の TA98、TA100、TA1535 及び TA1537 株では 78 μg/plate 以上、+S9mix 法の TA98、TA1535 及び TA1537 株では 1250 μg/plate 以上及び TA100 株では 313 μg/plate 以上で認められた。WP2*uvrA* 株では-S9mix 法及び+S9mix 法共に最高用量である 5000 μg/plate でも生育阻害は認められなかった。-S9mix 法の TA98、TA100、TA1535 及び TA1537 株については、生育阻害を示さない用量数が 3 用量以下であったため、同一用量で Assay 2（本試験、1 回目）及び Assay 3（本試験、2 回目）を実施した。このほかについては、Assay 1（用量設定試験）の結果を 1 回目の結果とし、Assay 2（本試験、1 回目）を実施した。

用量は、-S9mix 法の TA98、TA100、TA1535 及び TA1537 株では 2.4～78 μg/plate、+S9mix 法の TA98、TA1535 及び TA1537 株では 39～1250 μg/plate、TA100 株では 10～313 μg/plate、WP2*uvrA* 株では-S9mix 法及び+S9mix 法共に 313～5000 μg/plate とした。

-S9mix 法及び+S9mix 法のいずれの用量においても復帰変異コロニー数は陰性対照群の 2 倍以上に増加しなかった。

以上の結果から、AJM300 にはネズミチフス菌及び大腸菌に対する復帰突然変異誘発性がないものと判断した。

2.6.6.4.1.2 ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験

〔概要表番号：2.6.7.8.2、第 4 部資料番号：4.2.3.3.1-2（評価）〕

チャイニーズハムスターの肺由来線維芽細胞（CHL/IU 細胞）を用いた。短時間処理法では代謝活性化系非存在下（-S9mix 法）又は存在下（+S9mix 法）の条件で AJM300 を CHL/IU 細胞に 6 時間曝露させ、さらに 18 時間培養を継続した後、染色体標本を作製し観察した。連続処理法では-S9mix 法の条件で AJM300 を CHL/IU 細胞に 24 又は 48 時間曝露させた後、染色体標本を作製し観察した。用量は短時間処理法の-S9mix 法では 20～100 μg/mL、+S9mix 法では 75～600 μg/mL とし、連続処理法の 24 時間曝露では 30～120 μg/mL、48 時間曝露では 20～80 μg/mL とした。

染色体の構造異常を有する細胞及び数的異常を有する細胞の出現頻度はいずれにおいても 5%未満となり陰性であった。

以上の結果から、AJM300 には CHL/IU 細胞に対する染色体異常誘発性がないものと判断した。

2.6.6.4.2 *In vivo* 遺伝毒性試験

2.6.6.4.2.1 ラット小核試験

〔概要表番号：2.6.7.9.1、第 4 部資料番号：4.2.3.3.2-1（評価）〕

1 群 5 例の雄の SD ラットに注射用水に懸濁した AJM300M1 製剤を 1 日 1 回、2 日間強制経口投与した。用量は技術的に投与可能な最大容量である 10 mL/kg と調製可能な最大濃度（30 mg/mL）から 300 mg/kg/day を高用量とし、以下 150 及び 75 mg/kg/day を設定した（用量は AJM300 換算）。陰性対照群には注射用水に懸濁した高用量群と同じ量のメチルセルロース及びクロスカルメロースナトリウムを同様に投与し、陽性対照群にはシクロフォスファミド 10 mg/kg を単回腹腔内投与した。最終投与 24 時間後に骨髄細胞を採取し、小核をもつ幼若赤血球（MNIMEs）の出現数及び出現頻度を評価した。

幼若赤血球（IMEs）10000 個中（2000 個×5 例／群）の MNIMEs の出現数は、陰性対照群では 16 個、75 mg/kg 群では 10 個、150 mg/kg 群では 9 個、300 mg/kg 群では 15 個となった。Kastenbaum と Bowman の方法で検定した結果、陰性対照群と比較していずれの AJM300M1 製剤投与群でも有意差はみられなかった。また、IMEs の出現頻度は、陰性対照群と比較していずれの AJM300M1 製剤投与群でも有意差はみられなかった。

陰性対照群の MNIMEs 出現頻度は試験実施施設における背景データの変動範囲内であった。一方、陽性対照群の IMEs の出現頻度は、陰性対照群と比較して有意に減少し、骨髄毒性を示した。また、陽性対照群の MNIMEs の出現頻度は陰性対照群と比較して有意に増加した。

以上の結果から、AJM300 にはラット骨髄細胞に対する小核誘発性がないものと判断した。

2.6.6.4.2.2　ラット小核試験（高用量）

〔概要表番号：2.6.7.9.2、第 4 部資料番号：4.2.3.3.2-2（評価）〕

先に実施したラット小核試験（概要文 2.6.6.4.2.1）では、医薬品の遺伝毒性試験に関するガイドラインが最高用量と示している 2000 mg/kg/day まで投与できなかったため、投与方法を改訂し、2000 mg/kg/day を投与する目的で本試験を実施した。

1 群 5 例の雄の SD ラットに注射用水に懸濁した AJM300M1 製剤を強制経口投与した。用量は 25 mg/mL の濃度の投与液を、1 回の投与で許容されている最大容量（40 mL/kg、空腹下）を投与することにより、1 回投与の用量を 1000 mg/kg としたが、用量を高めるために、1000 mg/kg を 4 時間の間隔で 2 回投与する 2000 mg/kg/day を高用量に設定した。また、1000 mg/kg/day の 1 日 1 回投与を中用量とし、低用量には同じ濃度の投与液を 20 mL/kg の容量で投与する 500 mg/kg/day を設定した（用量は AJM300 換算）。陰性対照群には注射用水に懸濁した高用量群と同じ量のメチルセルロース及びクロスカルメロースナトリウムを 1 日 2 回同様に投与した。また、陽性対照群にはシクロフォスファミド 20 mg/kg を 1 日 1 回投与した。これらの対照物質又は被験物質は 2 日間投与し、動物は初回投与の 4 時間前から最終投与の 3 時間後まで絶食した。最終投与後 24 時間に骨髄細胞を採取し、小核をもつ幼若赤血球（MNIMEs）の出現数及び出現頻度を評価した。

幼若赤血球（IMEs）10000 個中（2000 個×5 例／群）の MNIMEs の出現数は、陰性対照群では 10 個、500 mg/kg 群では 9 個、1000 mg/kg 群では 16 個、2000 mg/kg 群では 6 個となった。Kastenbaum と Bowman の方法で検定した結果、陰性対照群と比較していずれの AJM300M1 製剤投与群でも有意差はみられなかった。また、IMEs の出現頻度は、陰性対照群と比較していずれの AJM300M1 製剤投与群でも有意差はみられなかった。

陰性対照群の MNIMEs 出現頻度は試験実施施設における背景データの変動範囲内であった。一方、陽性対照群の IMEs の出現頻度は、陰性対照群と比較して有意に減少し、骨髄毒性を示した。また、陽性対照群の MNIMEs の出現頻度は陰性対照群と比較して有意に増加した。

以上の結果から、AJM300 にはラット骨髄細胞に対する小核誘発性がないものと判断した。

2.6.6.5 がん原性試験

2.6.6.5.1 マウス 13 週間投与試験（がん原性予備試験）

〔概要表番号：2.6.7.6、第 4 部資料番号：4.2.3.4.1-1（評価）〕

1 群雌雄各 10 例の B6C3F$_1$ マウスに注射用水に懸濁した AJM300M1 製剤を 1 日 1 回、13 週間強制経口投与した。用量は技術的に投与可能な最大容量である 10 mL/kg と調製可能な最大濃度（30 mg/mL）から 300 mg/kg/day を高用量とし、以下 100 及び 30 mg/kg/day を設定した（用量は AJM300 換算）。対照群には注射用水を、プラセボ群には注射用水に懸濁した高用量群と同じ量のメチルセルロース及びクロスカルメロースナトリウムを 1 日 1 回同様に投与した。また、AJM300M1 製剤投与群に TK サテライト群を設定し、同様に AJM300M1 製剤を 1 群雌雄各 52 例に投与して AJM300 及びその活性代謝物である HCA2969 について血漿中濃度を測定した。

AJM300 及び HCA2969 の血漿中濃度は、C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$ 共に用量の増加に従って増加した。

いずれの群においても死亡は認められず、一般症状、体重、摂餌量、血液生化学的検査、器官重量及び解剖検査に AJM300 投与の影響は認められなかった。

血液学的検査では白血球数の高値が雄の 300 mg/kg 群及び雌の 30 mg/kg 以上の群に認められ、リンパ球比率の高値が雄の 300 mg/kg 群及び雌の 100 mg/kg 以上の群にみられた。また、病理組織学的検査では脾臓の辺縁帯における細胞数減少が 100 及び 300 mg/kg 群の雌雄に認められた。これらの変化は AJM300 の活性代謝物である HCA2969 の薬理作用である α4 インテグリン阻害作用に関連しているものと考え、毒性とは判断しなかった。

以上の結果から、本試験条件下において、高用量の 300 mg/kg 群でも毒性を示唆する変化は認められなかった。

2.6.6.5.2 マウスがん原性試験

〔概要表番号：2.6.7.10.1、第 4 部資料番号：4.2.3.4.1-2（評価）〕

1 群雌雄各 55 例の B6C3F$_1$ マウスに注射用水に懸濁した AJM300M1 製剤を 1 日 1 回、24 ヵ月間強制経口投与した。用量は技術的に投与可能な最大容量である 10 mL/kg と調製可能な最大濃度（30 mg/mL）から 300 mg/kg/day を高用量とし、以下 100 及び 30 mg/kg/day を設定した（用量は AJM300 換算）。対照群には注射用水を、プラセボ群には注射用水に懸濁した高用量群と同じ量のメチルセルロース及びクロスカルメロースナトリウムを 1 日 1 回同様に投与した。また、AJM300M1 製剤投与群に TK サテライト群を設定し、同様に AJM300M1 製剤を 1 群雌雄各 80 例に投与して AJM300 及びその活性代謝物である HCA2969 について血漿中濃度を測定した。

AJM300 及び HCA2969 の血漿中濃度は、C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$ 共に用量の増加に従って増加した。

AJM300 投与により特定の腫瘍あるいは非腫瘍性病変による死亡又は瀕死動物が増加することはなく、一般症状、体重、摂餌量、血液学的検査及び解剖検査に AJM300 投与の影響は認められなかった。300 mg/kg 群の雄では、プラセボ群と比べて生存率の低下がみられたが、対照群との間に明らかな差はみられなかったことから、AJM300 投与との関連性はないと考えられた。

病理組織学的検査において、本試験でみられた腫瘍はいずれも自然発生腫瘍であり、AJM300 投与に起因した腫瘍の発生はなかった。非腫瘍性病変では、いずれの器官・組織にも AJM300 投与によると考えられる変化は認められなかった。

そのほか、血液学的検査において、300 mg/kg 群の雄で対照群及びプラセボ群と比べて白血球数の高値傾向がみられたが、悪性リンパ腫の 1 例の高値を反映したものと考えられ、AJM300 投与による影響ではないと考えられた。30 及び 300 mg/kg 群の雌で対照群と比べて白血球数の高値がみられたが、プラセボ群と比べて大差がないか、逆に低値を示していることから AJM300 投与との関連性はないと考えられた。また、30 及び 300 mg/kg 群の雄でプラセボ群と比べて血小板数の低値がみられたが、両群とも対照群との間に大差がみられないことから AJM300 投与による影響ではないと考えられた。

以上、本試験条件下において、AJM300 投与による腫瘍発生の増加はなかった。なお、300 mg/kg 群における投与 12 ヵ月目の AJM300 の C_{max} は雄で 1234 ng/mL、雌で 1894 ng/mL、$AUC_{0\text{-}24h}$ は雄で 2024 ng·h/mL、雌で 4279 ng·h/mL であった。また、HCA2969 の C_{max} は雄で 18072 ng/mL、雌で 23353 ng/mL、$AUC_{0\text{-}24h}$ は雄で 40735 ng·h/mL、雌で 79929 ng·h/mL であった。

2.6.6.5.3　ラット 13 週間投与試験（がん原性予備試験）

〔概要表番号：2.6.7.6、第 4 部資料番号：4.2.3.4.1-3（評価）〕

1 群雌雄各 10 例の SD ラットに注射用水に懸濁した AJM300M1 製剤を 1 日 1 回､13 週間強制経口投与した。用量は技術的に投与可能な最大容量である 10 mL/kg と調製可能な最大濃度（30 mg/mL）から 300 mg/kg/day を最高用量とし、以下 100、30 及び 10 mg/kg/day を設定した（用量は AJM300 換算）。対照群には注射用水を、プラセボ群には注射用水に懸濁した最高用量群と同じ量のメチルセルロース及びクロスカルメロースナトリウムを 1 日 1 回同様に投与した。また、AJM300M1 製剤投与群に TK サテライト群を設定し、同様に AJM300M1 製剤を 1 群雌雄各 4 例に投与して AJM300 及びその活性代謝物である HCA2969 について血漿中濃度を測定した。

AJM300 及び HCA2969 の血漿中濃度は、C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$ 共に用量の増加に従って増加した。

いずれの群においても死亡は認められず、一般症状、体重、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査、器官重量及び解剖検査に AJM300 投与の影響は認められなかった。

病理組織学的検査では脾臓の辺縁帯における細胞数減少が 30 mg/kg 以上の群で認められた。しかし、この変化は AJM300 の活性代謝物である HCA2969 の薬理作用である α4 インテグリン阻害作用と関連しているものと考え、毒性とは判断しなかった。

以上の結果から、本試験条件下において、高用量の 300 mg/kg 群でも毒性を示唆する変化は認められなかった。

2.6.6.5.4　ラットがん原性試験

〔概要表番号：2.6.7.10.2、第 4 部資料番号：4.2.3.4.1-4（評価）〕

1 群雌雄各 60 例の SD ラットに注射用水に懸濁した AJM300M1 製剤を 1 日 1 回､24 ヵ月間強制経口投与した。用量は技術的に投与可能な最大容量である 10 mL/kg と調製可能な最大濃度（30 mg/mL）から 300 mg/kg/day を高用量とし、以下 100 及び 30 mg/kg/day を設定した（用量は AJM300 換算）。対照群には注射用水を、プラセボ群には注射用水に懸濁した高用量群と同じ量のメチルセルロース及びクロスカルメロースナトリウムを 1 日 1 回同様に投与した。また、AJM300M1 製剤投与群に TK サテライト群を設定し、同様に AJM300M1 製剤を 1 群雌雄各 4 例に投与して AJM300 及びその活性代謝物である HCA2969 について血漿中濃度を測定した。なお、雄

は 104 週投与したが、雌の低用量群で生存率が低下したため、雌については 102 週の投与後に全生存動物を剖検し、動物試験を終了した。

AJM300 及び HCA2969 の血漿中濃度は、C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$ 共に用量の増加に従って増加した。

AJM300 投与により特定の腫瘍あるいは非腫瘍性病変による死亡又は瀕死動物が増加することはなく、一般症状、体重、摂餌量、血液学的検査及び解剖検査に AJM300 投与の影響は認められなかった。また、生存率に対する影響もなかった。

病理組織学的検査において、本試験でみられた腫瘍はいずれも自然発生腫瘍であり、AJM300 投与に起因した腫瘍の発生はなかった。非腫瘍性病変では、各投与群で脾臓の辺縁帯における細胞数減少と白脾髄（辺縁帯を除く）細胞成分の増加が認められた。辺縁帯における細胞数減少は AJM300 の活性代謝物である HCA2969 の薬理作用である α4 インテグリン阻害作用と関連しているものと考えられた。白脾髄（辺縁帯を除く）細胞成分の増加は T 細胞と B 細胞領域でのクロマチンに富むリンパ球の増加によって、T 細胞領域と B 細胞領域の識別が容易でなくなり白脾髄全体が大型化したものであり、その発生機序は明らかでないが、辺縁帯機能との関連性が疑われた。これらの変化は、先に実施した 26 週間反復経口投与毒性試験でも認められており、さらに長期間にわたりこれらの変化が持続してみられた本試験ではリンパ造血器系腫瘍の発生や免疫学的異常を示唆する病変の発生がないことから、脾臓における辺縁帯の細胞数減少と白脾髄（辺縁帯を除く）細胞成分の増加の毒性学的意義はほとんどないと考えられた。

以上、本試験条件下において、AJM300 投与による腫瘍発生の増加はなかった。なお、300 mg/kg 群における投与 12 ヵ月目の AJM300 の C_{max} は雄で 170 ng/mL、雌で 1351 ng/mL、$AUC_{0\text{-}24h}$ は雄で 1130 ng·h/mL、雌で 6355 ng·h/mL であった。また、HCA2969 の C_{max} は雄で 5836 ng/mL、雌で 10760 ng/mL、$AUC_{0\text{-}24h}$ は雄で 50645 ng·h/mL、雌で 72284 ng·h/mL であった。

2.6.6.6　生殖発生毒性試験

2.6.6.6.1　受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

ラット受胎能及び胚･胎児発生に関する経口投与試験で記載した（2.6.6.6.2.4 参照）。

2.6.6.6.1.1　マウス受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

〔概要表番号：2.6.7.12.1、第 4 部資料番号：4.2.3.5.1-1（評価）〕

1 群雌雄各 25 例の ICR マウスに注射用水に懸濁した AJM300M1 製剤を、雄には交配前 4 週間及び交配期間を経て解剖検査前日まで、雌には交配前 2 週間及び交配期間を経て交尾成立後 6 日まで、1 日 1 又は 2 回強制経口投与し、受胎能及び初期胚発生に及ぼす影響について検討した。用量は技術的に投与可能な最大容量である 10 mL/kg と調製可能な最大濃度（30 mg/mL）から、1 回投与での投与可能な最大量が 300 mg/kg となったが、できる限り用量を高めるために、300 mg/kg を 6 時間の間隔で 2 回投与する 600 mg/kg/day を最高用量に設定した。また、300 mg/kg の 1 日 1 回投与を高用量とし、以下 100 及び 30 mg/kg/day を設定した（用量は AJM300 換算）。対照として注射用水に懸濁した高用量群と同じ量のメチルセルロース及びクロスカルメロースナトリウムを 1 日 1 回同様に投与し、プラセボ群とした。また、TK サテライト群を設定し、プラセボ群は雌雄各 6 例、30、100、300 mg/kg 群は雌雄各 39 例、600 mg/kg 群は雌雄各 57 例より TK サンプルを採取し、AJM300 及びその活性代謝物である HCA2969 について血漿中濃度を測定した。母動物は妊娠 18 日に解剖検査及び帝王切開を実施した。

雄動物に対する影響では、いずれの群においても死亡は認められなかった。600 mg/kg 群では、投与 4 から 43 日に体重の低値及び投与 1 から 8 日の体重増加量の低値がみられた。また、精巣上体の絶対重量の低値がみられた。これらの変化は、投与 8 日以降の体重増加量に変化がないこと、精巣上体の相対重量に変化がないことから、投与初期の体重増加量の低値を反映した体重の低値によるものであると考えられた。また、体重増加量の低値は、投与初期のみに認められた変化であることから、AJM300 投与による重篤な毒性ではないと考えられた。そのほか、一般症状、摂餌量及び解剖検査に AJM300 投与と関連する変化はみられなかった。AJM300 及び HCA2969 の血漿中濃度は、C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$ 共に用量の増加に従って増加した。

雌動物に対する影響では、いずれの群においても死亡及び流・早産は認められなかった。600 mg/kg 群では、妊娠 5 から 7 日に体重の低値がみられたが、一過性の軽微な変化であり、AJM300 投与による影響ではないと考えられた。そのほか、一般症状、体重増加量、摂餌量及び解剖検査に AJM300 投与と関連する変化はみられなかった。AJM300 及び HCA2969 の血漿中濃度は、C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$ 共に用量の増加に従って増加した。

親動物の生殖機能に対する影響では、交配開始前の発情回数、交尾までに要した日数、交尾率及び受胎率に AJM300 投与と関連する変化はみられなかった。また、黄体数、着床数、着床率、着床前死亡数及び着床前死亡率にも AJM300 投与と関連する変化はみられなかった。

初期胚発生に対する影響では、生存胎児数、着床後死亡数、着床後死亡率、胎児重量、胎盤重量、胎盤の形態及び性比に AJM300 投与と関連する変化はみられなかった。また、生存胎児の外表検査、内臓検査、骨格検査及び骨化進行度に AJM300 投与と関連する変化はみられなかった。

以上の結果から、親動物の一般毒性、生殖機能及び初期胚発生に対する無毒性量はいずれも 600 mg/kg/day 超と考えられた。なお、無毒性量における最終投与時（雄：投与 28 日目、雌：投与 14 日目）の AJM300 の C_{max} は雄で 827 ng/mL、雌で 1398 ng/mL、$AUC_{0\text{-}24h}$ は雄で 2642 ng·h/mL、雌で 3722 ng·h/mL であった。また、HCA2969 の C_{max} は雄で 19487 ng/mL、雌で 21862 ng/mL、$AUC_{0\text{-}24h}$ は雄で 67693 ng·h/mL、雌で 89453 ng·h/mL であった。

2.6.6.6.2 胚・胎児発生に関する試験

2.6.6.6.2.1 マウス胚･胎児発生に関する予備試験

〔概要表番号：2.6.7.13.1、第 4 部資料番号：4.2.3.5.2-1（評価）〕

1 群 8 から 10 例の ICR 妊娠マウスに注射用水に懸濁した AJM300M1 製剤を着床から硬口蓋閉鎖時期に当たる妊娠 6 日から 15 日まで、1 日 1 又は 2 回強制経口投与し、母動物及び胚・胎児発生に及ぼす影響について検討した。用量は技術的に投与可能な最大容量である 10 mL/kg と調製可能な最大濃度（30 mg/mL）から、1 回投与での投与可能な最大量が 300 mg/kg となったが、できる限り用量を高めるために、300 mg/kg を 6 時間の間隔で 2 回投与する 600 mg/kg/day を最高用量に設定した。また、300 mg/kg の 1 日 1 回投与を高用量とし、以下 100 及び 30 mg/kg/day を設定した（用量は AJM300 換算）。また、対照として、注射用水に懸濁した高用量群と同じ量のメチルセルロース及びクロスカルメロースナトリウムを投与するプラセボ群を設けた。プラセボ群 I には 1 日 1 回、プラセボ群 II には 1 日 2 回同様に投与した。さらに、600 mg/kg 群を除く AJM300M1 製剤投与群に TK サテライト群を設定し、同様に AJM300M1 製剤を 1 群 18 例に投与して AJM300 及びその活性代謝物である HCA2969 について血漿中濃度を測定した。母動物は妊娠 18 日に解剖検査及び帝王切開を実施した。

AJM300 及び HCA2969 の血漿中濃度は、C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$ 共に用量の増加に従って増加した。

母動物に対する影響では、いずれの群においても死亡及び流・早産は認められず、一般症状、体重、体重増加量、摂餌量及び解剖検査には AJM300 投与と関連する変化は認められなかった。また、黄体数、着床数、着床率、着床前死亡数及び着床前死亡率にも AJM300 投与と関連する変化は認められなかった。

胚・胎児発生に対する影響では、着床後死亡数及び着床後死亡率の高値とこれに伴う生存胎児数の低値が 100 mg/kg 以上の群でみられた。また、左心房小型の出現率に関連した内臓異常の出現率の高値が 100 mg/kg 以上の群で、雌胎児体重の低値が 600 mg/kg 群でみられた。生存胎児の性比、胎盤の形態及び重量、外表検査、骨格検査並びに骨化進行度に AJM300 投与と関連する変化は認められなかった。

以上の結果から、AJM300 投与による胚・胎児発生に対する影響が 100 mg/kg/day より確認された。なお、100 mg/kg 群の妊娠 6 日目の AJM300 の C_{max} は 419 ng/mL、$AUC_{0\text{-}24h}$ は 630 ng·h/mL であった。また、HCA2969 の C_{max} は 14000 ng/mL、$AUC_{0\text{-}24h}$ は 29500 ng·h/mL であった。

2.6.6.6.2.2 マウス胚･胎児発生に関する試験

〔概要表番号：2.6.7.13.2、第 4 部資料番号：4.2.3.5.2-2（評価）〕

1 群 19 から 20 例の ICR 妊娠マウスに注射用水に懸濁した AJM300M1 製剤を着床から硬口蓋閉鎖時期に当たる妊娠 6 日から 15 日まで、1 日 1 又は 2 回強制経口投与し、母動物及び胚・胎児発

生に及ぼす影響について検討した。1 日あたりの用量は技術的に投与可能な最大容量である 10 mL/kg と調製可能な最大濃度（30 mg/mL）から、1 回投与での投与可能な最大量が 300 mg/kg となったが、できる限り用量を高めるために、300 mg/kg を 6 時間の間隔で 2 回投与する 600 mg/kg/day を最高用量に設定した。また、300 mg/kg の 1 日 1 回投与を高用量とし、以下 60 及び 12 mg/kg/day を設定した（用量は AJM300 換算）。また対照として、注射用水に懸濁した高用量群と同じ量のメチルセルロース及びクロスカルメロースナトリウムを 1 日 1 回投与するプラセボ群を設けた。また、TK サテライト群を設定し、プラセボ群は 6 例、12、60、300 mg/kg 群は 39 例、600 mg/kg 群は 57 例より TK サンプルを採取し、AJM300 及びその活性代謝物である HCA2969 について血漿中濃度を測定した。母動物は妊娠 18 日に解剖検査及び帝王切開を実施した。

AJM300 及び HCA2969 の血漿中濃度は、C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$ 共に用量の増加に従って増加した。

母動物に対する影響では、いずれの群においても死亡及び流・早産は認められず、一般症状、体重、体重増加量、摂餌量及び解剖検査には AJM300 投与と関連する変化は認められなかった。また、黄体数、着床数、着床率、着床前死亡数及び着床前死亡率にも AJM300 投与と関連する変化は認められなかった。

胚・胎児発生に対する影響では、着床後死亡数及び着床後死亡率の高値とこれに伴う生存胎児数の低値が 600 mg/kg 群でみられた。また、左心房小型の出現率の高値及び胸骨分節糸状癒合の出現率の高値が 300 mg/kg 以上の群で、腸短小（結腸）の出現率の高値及び胸骨分節配列異常の出現率の高値が 600 mg/kg 群でみられた。なお、60 及び 12 mg/kg 群における左心房小型の出現率は、マウス胚･胎児発生に関する予備試験の対照群における左心房小型の出現率の範囲内にあり、程度も予備試験の対照群と同等であることから、偶発的な変化と考えられた。生存胎児の性比、胎児重量、胎盤の形態、胎盤重量、外表検査及び骨化進行度に AJM300 投与と関連する変化は認められなかった。

以上の結果から、母動物の一般毒性及び生殖機能に対する無毒性量は 600 mg/kg/day 超、胚・胎児発生に対する無毒性量は、60 mg/kg/day と考えられた。なお、60 及び 600 mg/kg/day における妊娠 15 日目の AJM300 の C_{max} はそれぞれ 266 及び 1208 ng/mL、$AUC_{0\text{-}24h}$ はそれぞれ 612 及び 4209 ng·h/mL であった。また、HCA2969 の C_{max} はそれぞれ 6384 及び 23535 ng/mL、$AUC_{0\text{-}24h}$ はそれぞれ 14135 及び 82325 ng·h/mL であった。

2.6.6.6.2.3　ラット胚･胎児発生に関する予備試験

〔概要表番号：2.6.7.11、第 4 部資料番号：4.2.3.5.2-3（評価）〕

1 群 10 例の妊娠 SD ラットに注射用水に懸濁した AJM300M1 製剤を 30、100 及び 300 mg/kg/day の用量（用量は AJM300 換算）で着床から硬口蓋閉鎖時期に当たる妊娠 7 日から 17 日まで、1 日 1 回強制経口投与し、母動物及び胚・胎児発生に及ぼす影響について検討した。対照群には注射用水を、プラセボ群には注射用水に懸濁した最高用量群と同じ量のメチルセルロース及びクロスカルメロースナトリウムを 1 日 1 回同様に投与した。母動物は妊娠 20 日に解剖検査及び帝王切開を実施した。

母動物の一般毒性に対する影響では、いずれの動物にも死亡及び流・早産は認められず、一般症状、体重、摂餌量及び解剖検査に AJM300 投与と関連する変化は認められなかった。

母動物の生殖機能に対する影響では、各投与群とも、黄体数、着床数及び着床率に AJM300 投与と関連する変化は認められなかった。

胚・胎児発生に対する影響では、生存胎児数、胚･胎児死亡率、性比、生存胎児体重及び胎盤重量に AJM300 投与と関連する変化は認められなかった。また、生存胎児の外表検査、内臓検査、骨格検査及び骨化進行度のいずれにも AJM300 投与と関連する変化は認められなかった。

以上の結果から、本試験条件下において、高用量の 300 mg/kg 群でも母動物及び胚･胎児発生に及ぼす影響は認められなかった。

2.6.6.6.2.4　ラット受胎能及び胚･胎児発生に関する試験

〔概要表番号：2.6.7.13.3、第 4 部資料番号：4.2.3.5.2-4（評価）〕

1 群雌雄各 20 例の SD ラットに注射用水に懸濁した AJM300M1 製剤を 30、100 及び 300 mg/kg/day の用量（用量は AJM300 換算）で交配前 2 週間及び交配期間を経て、雄には解剖検査前日まで、雌には硬口蓋閉鎖時期に当たる妊娠 17 日まで、1 日 1 回強制経口投与し、雌雄ラットの生殖機能及び胚・胎児発生に及ぼす影響について検討した。対照として注射用水に懸濁した高用量群と同じ量のメチルセルロース及びクロスカルメロースナトリウムを 1 日 1 回同様に投与し、プラセボ群とした。母動物は妊娠 20 日に解剖検査及び帝王切開を実施した。

親動物の一般毒性に対する影響では、いずれの群においても死亡は認められず、一般症状、体重、摂餌量、解剖検査並びに精巣及び精巣上体の重量に AJM300 投与と関連する変化は認められなかった。親動物の生殖機能に対する影響では、性周期、交尾までに要した日数、交尾率、授精率、受胎率、黄体数、着床数、着床率に AJM300 投与の影響は認められなかった。

胚・胎児発生に対する影響では、生存胎児数、胚・胎児死亡数、胚・胎児死亡率、性比、生存胎児重量及び胎盤重量に AJM300 投与と関連する変化は認められなかった。また、生存胎児の外表検査、内臓検査、骨格検査及び骨化進行度のいずれにも AJM300 投与と関連する変化は認められなかった。

以上の結果から、親動物の一般毒性、生殖機能及び胚・胎児発生に対する無毒性量はいずれも 300 mg/kg/day 超と考えられた。

2.6.6.6.2.5　ウサギ胚･胎児発生に関する予備試験

〔概要表番号：2.6.7.11、第 4 部資料番号：4.2.3.5.2-5（評価）〕

1 群 6 例のニュージーランドホワイト種妊娠ウサギに注射用水に懸濁した AJM300M1 製剤を 30、100 及び 300 mg/kg/day の用量（用量は AJM300 換算）で着床から硬口蓋閉鎖時期に当たる妊娠 6 日から 18 日まで、1 日 1 回強制経口投与し、母動物及び胚・胎児発生に及ぼす影響について検討した。対照群には注射用水を、プラセボ群には注射用水に懸濁した最高用量群と同じ量のメチルセルロース及びクロスカルメロースナトリウムを 1 日 1 回同様に投与した。母動物は妊娠 28 日に解剖検査及び帝王切開を実施した。また、AJM300 及びその活性代謝物である HCA2969 について AJM300M1 製剤投与群の妊娠動物の血漿中濃度を測定した。母動物は妊娠 28 日に解剖検査及び帝王切開を実施した。

AJM300 の血漿中濃度について、C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$ 共に 100 mg/kg まで用量の増加に従って増加したが、300 mg/kg 群は用量に従った増加が明らかでなかった。一方、HCA2969 の血漿中濃度については、C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$ 共に用量の増加に従って増加した。

母動物の一般毒性に対する影響では、いずれの動物にも死亡は認められず、30 及び 100 mg/kg において、一般症状、体重及び解剖検査に AJM300 投与と関連する変化は認められなかった。300 mg/kg 群の血液学的検査において、総白血球数及びリンパ球比の高値のほか、偽好酸球比の低値が認められた。これらの変化は AJM300 の活性代謝物である HCA2969 の薬理作用である α4 インテグリン阻害作用と関連した変化と考えられ、毒性とは判断しなかった。

母動物の生殖機能に対する影響では、各投与群とも、黄体数、着床数及び着床率に AJM300 投与と関連する変化は認められなかった。

胚･胎児発生に対する影響では、生存胎児数、胚･胎児死亡数、胚･胎児死亡率、性比、生存胎児体重及び胎盤重量に AJM300 投与と関連する変化は認められなかった。また、生存胎児の外表検査にも AJM300 投与と関連する変化は認められなかった。

以上の結果から、本試験条件下において、高用量の 300 mg/kg 群でも母動物及び胚･胎児発生に及ぼす影響は認められなかった。なお、300 mg/kg における妊娠 18 日目の AJM300 の C_{max} は 102 ng/mL、$AUC_{0\text{-}24h}$ は 251 ng·h/mL であった。また、HCA2969 の C_{max} は 4920 ng/mL、$AUC_{0\text{-}24h}$ は 10900 ng·h/mL であった。

2.6.6.6.2.6　ウサギ胚・胎児発生に関する試験

〔概要表番号：2.6.7.13.4、第 4 部資料番号：4.2.3.5.2-6（評価）〕

1 群 16 から 19 例のニュージーランドホワイト種妊娠ウサギに注射用水に懸濁した AJM300M1 製剤を 30、100 及び 300 mg/kg/day の用量（用量は AJM300 換算）で着床から硬口蓋閉鎖時期に当たる妊娠 6 日より 18 日まで、1 日 1 回強制経口投与し、母動物及び胚･胎児発生に及ぼす影響を検討した。対照として注射用水に懸濁した高用量群と同じ量のメチルセルロース及びクロスカルメロースナトリウムを同様に投与し、プラセボ群とした。また、AJM300 及びその活性代謝物である HCA2969 について AJM300M1 製剤投与群の妊娠動物 4 例の血漿中濃度を測定した。母動物は妊娠 28 日に解剖検査及び帝王切開を実施した。

AJM300 の血漿中濃度について、C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$ 共に 100 mg/kg まで用量の増加に従って増加したが、300 mg/kg 群は用量に従った増加が明らかでなかった。一方、HCA2969 の血漿中濃度については、C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$ 共に用量の増加に従って増加した。

母動物の一般毒性に対する影響では、いずれの動物にも死亡は認められず、30 及び 100 mg/kg において、一般症状、体重及び解剖検査に AJM300 投与と関連する変化は認められなかった。300 mg/kg 群において、摂餌量の低値及び排糞量の減少が認められた。また、顕著な摂餌量の低値を示し、体重及び排糞量の減少が認められた 1 例が妊娠 22 日に流産した。流産動物の血液学的検査では白血球数の高値が認められたほか、解剖検査では胃粘膜の暗赤色巣及び肝臓の白色化、胃及び肝臓の癒着、更に胆嚢の肥大がみられた。この流産は AJM300 投与の影響による母動物の一般状態の悪化に伴う二次的な変化と考えられた。流産動物以外では、解剖検査において AJM300 投与と関連する変化は認められなかったが、血液学的検査において、赤血球数の低値が観察された。300 mg/kg 群で認められたこれらの所見については AJM300 投与による毒性と判断した。血液学的検査ではさらに、300 mg/kg 群で総白血球数及びリンパ球比の高値のほか、偽好酸球比の低値が認められた。100 mg/kg 群では総白血球数の高値が認められたこれらの変化は AJM300 の活性代謝物である HCA2969 の薬理作用である α4 インテグリン阻害作用と関連した変化と考えられ、毒

性とは判断しなかった。そのほか、100 mg/kg 群の 1 例においても妊娠 26 日に流産がみられたが、300 mg/kg 群の流産例とは異なる経過、すなわち一般症状の悪化を伴わず体重や摂餌量の低値を示さなかったことから偶発的変化と判断した。なお当該試験実施施設で過去に実施されたウサギ生殖発生毒性試験における対照群の流産の発生率は 0 から 16.7%であり、100 mg/kg 群の流産発生率（5.3%）は、この範囲内であった。また、100 mg/kg 群でも摂餌量の低値が認められたが一過性の変化であり、毒性学的意義のない変化と考えられた。

母動物の生殖機能に対する影響では、各投与群とも、黄体数、着床数及び着床率に AJM300 投与と関連する変化は認められなかった。

胚･胎児発生に対する影響では、生存胎児数、胚･胎児死亡数、胚･胎児死亡率、性比、生存胎児体重及び胎盤重量に AJM300 投与と関連する変化は認められなかった。また、生存胎児の外表検査、内臓検査、骨格検査及び骨化進行度のいずれにも AJM300 投与と関連する変化は認められなかった。

以上の結果から、当該試験における無毒性量は母動物の一般毒性に関しては 100 mg/kg/day、母動物の生殖機能及び胚･胎児発生に関しては 300 mg/kg/day 超と考えられた。なお、100 及び 300 mg/kg における妊娠 18 日目の AJM300 の C_{max} はそれぞれ 252.0 及び 76.1 ng/mL、$AUC_{0\text{-}24h}$ はそれぞれ 278.6 及び 116.8 ng·h/mL であった。また、HCA2969 の C_{max} はそれぞれ 1907.0 及び 2832.7 ng/mL、$AUC_{0\text{-}24h}$ はそれぞれ 3322.0 及び 8865.8 ng·h/mL であった。

2.6.6.6.3　出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験

2.6.6.6.3.1　ラット出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能に関する試験

〔概要表番号：2.6.7.14.1、第 4 部資料番号：4.2.3.5.3-1（評価）〕

1 群 20 例の妊娠した SD ラットに注射用水に懸濁した AJM300M1 製剤を 30、100 及び 300 mg/kg の用量（用量は AJM300 換算）で着床から離乳までに相当する妊娠 7 日から授乳 20 日まで、1 日 1 回強制経口投与し、妊娠及び授乳期の母動物、受胎産物及び出生児の発生に及ぼす影響について検討した。対照として注射用水に懸濁した高用量群と同じ量のメチルセルロース及びクロスカルメロースナトリウムの懸濁液を同様に投与し、プラセボ群とした。また、AJM300M1 製剤投与群に TK サテライト群を設定し、妊娠 7 日から妊娠 17 日まで同様に AJM300M1 製剤を 1 群 5 例に投与して AJM300 及びその活性代謝物である HCA2969 について血漿中濃度を測定した。

AJM300 及び HCA2969 の血漿中濃度は、C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$ 共に用量の増加に従って増加した。

母動物の一般毒性に対する影響では、いずれの群においても死亡は認められず、一般症状、哺育状態及び解剖検査に異常はなく、体重及び摂餌量にも AJM300 投与と関連する変化は認められなかった。

母動物の生殖機能に対する影響では、出産率、妊娠期間、着床痕数、死産児率、出生児数及び出生率に AJM300 投与と関連する変化は認められなかった。

出生児に対する影響では、いずれの群においても性比及び体重に AJM300 投与の影響は認められず、外表に異常もなかった。生後の生存性について、30 mg/kg 群において生後 4 日生存率が低値を示したが、用量との関連が明確でないことから偶発的な変化と考えられた。生後の体重推移、

外表分化、感覚・反射機能、離乳時解剖検査及び行動検査においても AJM300 投与と関連する変化は認められなかった。

F_1 動物の生殖機能に対する影響では、100 及び 300 mg/kg 群の交尾率及び 100 mg/kg 群の受胎率が低値を示した。いずれの変化も用量との関連が明確でなく、雄の精巣及び精巣上体並びに妊娠し得なかった雌の卵巣、子宮及び腟の病理組織学検査において AJM300 投与と関連する変化は認められないことから偶発的な変化と考えられた。また、30 及び 100 mg/kg 群の黄体数及び生存胚数並びに 100 及び 300 mg/kg 群の着床数が低値を示したが、いずれの変化も用量との関連が明確でないことから偶発的な変化と考えられた。交尾までに要した日数、妊娠 F_1 動物の妊娠期間中の体重、解剖検査、着床率及び胚死亡率に AJM300 投与と関連する変化は認められなかった。

以上の結果から、母動物の一般毒性及び生殖機能に関する無毒性量、出生児に関する無毒性量は、いずれも 300 mg/kg/day 超と考えられた。なお、無毒性量における妊娠 17 日目の AJM300 の C_{max} は 558 ng/mL、$AUC_{0\text{-}24h}$ は 2513 ng·h/mL であった。また、HCA2969 の C_{max} は 3484 ng/mL、$AUC_{0\text{-}24h}$ は 21887 ng·h/mL であった。

2.6.6.6.4　新生児を用いた試験

実施していない。

2.6.6.7　局所刺激性試験

本剤は経口剤のため、局所刺激性に関する評価は不要と判断し、実施しなかった。

2.6.6.8　その他の毒性試験

2.6.6.8.1　抗原性試験

抗原性試験は実施していない。

2.6.6.8.2　免疫毒性試験

2.6.6.8.2.1　ラットを用いたヒツジ赤血球（SRBC）に対する特異抗体産生能

〔概要表番号：2.6.7.17.2.1、第 4 部資料番号：4.2.3.7.2-1（評価）〕

1 群雌雄各 10 例の SD ラットに注射用水に懸濁した AJM300M1 製剤を 4 週間反復経口投与し、ヒツジ赤血球（SRBC）に対する特異抗体産生能を評価した。用量は技術的に投与可能な最大容量である 10 mL/kg と調製可能な最大濃度（30 mg/mL）から 300 mg/kg/day を高用量とし、以下 100 及び 30 mg/kg/day を設定した（用量は AJM300 換算）。対照群には注射用水を、プラセボ群には注射用水に懸濁した高用量群と同じ量のメチルセルロース及びクロスカルメロースナトリウムを 1 日 1 回同様に投与した。最終投与の 5 日前に SRBC を尾静脈より投与し、最終投与の翌日の解剖検査時に得られた血清の SRBC に対する特異抗体価を ELISA 法で測定した。

いずれの群においても死亡は認められず、一般症状、体重、血液学的検査及び解剖検査に AJM300 投与と関連する変化は認められなかった。また、免疫機能に関連する器官である胸腺及び脾臓の重量に変化はなく、抗 SRBC 抗体産生能にも影響はなかった。なお、脾臓の病理組織学的検査において、30 mg/kg 以上の群で辺縁帯の細胞数減少が観察された。

以上から、AJM300 は SRBC に対する特異抗体産生能に影響を与えないと考えられた。

2.6.6.8.3　毒性発現の機序に関する試験

毒性発現の機序に関する試験は実施していない。

2.6.6.8.4　依存性試験

薬物乱用に関する非臨床試験は実施していない。

安全性薬理試験並びに単回及び反復投与毒性試験で、中枢神経系に対する影響は示されていない。

2.6.6.8.5　代謝物の毒性試験

ヒトにおける AJM300 の主要代謝物は HCA2969、M-I、M-II 及び HCA2969-gluc である。活性代謝物である HCA2969 の安全性評価については考察及び結論（2.6.6.9 参照）で記載した。なお、HCA2969-gluc はヒトにおいて総曝露量の 10%を超える代謝物に該当する。

動物における血漿中曝露量と薬物相互作用試験（AJM300/CP7）〔2.7.6.8 参照〕におけるヒト 2 週間反復投与時の血漿中曝露量を比較する為、ラット及びマウスを用いた 2 週間反復投与トキシコキネティクス試験を実施した。

2.6.6.8.5.1　マウス経口 2 週間反復投与トキシコキネティクス試験

〔概要表番号：2.6.7.17.5.1、第 4 部資料番号：4.2.3.7.5-1（評価）〕

雌雄の ICR マウスに注射用水に懸濁した AJM300M1 製剤を 2 週間強制経口投与し、反復投与後の AJM300 及びヒト主要代謝物について血漿中濃度を測定した。用量はマウスのがん原性試験の最高用量である 300 mg/kg と、マウスの生殖発生毒性試験の最高用量である 600 mg/kg（300 mg/kg を 1 日 2 回投与）とした（用量は AJM300 換算）。採血は、300 mg/kg 群では投与 14 日の投与前、投与 0.25、0.5、2、6、8 及び 24 時間後の計 7 時点、600 mg/kg 群では投与 14 日の 1 回目投与前、1 回投与 0.25、0.5、2、6（2 回目投与直前）、6.25、6.5、8、12 及び 24 時間後の計 10 時点（雌雄各 3 例／群を各時点で使用）で行った。

死亡及び一般状態の変化はみられなかった。トキシコキネティクス値について表 2.6.6-2 に示した。

表 2.6.6-2　マウス 2 週間反復投与時におけるトキシコキネティクス値

	300 mg/kg				600 mg/kg（300 mg/kg×2）			
	C_{max}（ng/mL）		$AUC_{0\text{-}24h}$（ng·h/mL）		C_{max}（ng/mL）		$AUC_{0\text{-}24h}$（ng·h/mL）	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
AJM300	586	536	1160	2020	724	607	2500	2170
HCA2969	15000	24100	41100	96900	19700	26500	80200	113000
M-I	284	313	646	1260	395	372	1310	1360
M-II	2790	5000	9020	25500	3940	5770	16500	29200
HCA2969-gluc	1070	1070	1990	2630	2570	981	6920	3750

2.6.6.8.5.2　ラット経口 2 週間反復投与トキシコキネティクス試験

〔概要表番号：2.6.7.17.5.2、第 4 部資料番号：4.2.3.7.5-2（評価）〕

雌雄の SD ラットに注射用水に懸濁した AJM300M1 製剤を 2 週間反復経口投与し、反復投与後の AJM300 及びヒト主要代謝物について血漿中濃度を測定した。用量はラットの生殖発生毒性試験及びがん原性試験の最高用量である 300 mg/kg と、ラットの 26 週間反復投与毒性試験の最高用量である 600 mg/kg（300 mg/kg を 1 日 2 回投与）とした（用量は AJM300 換算）。採血は、300 mg/kg 群では投与 14 日の投与前、投与 0.5、1、4、8 及び 24 時間後の計 6 時点、600 mg/kg 群では投与 14 日の 1 回目投与前、1 回投与 0.5、1、4（2 回目投与直前）、4.5、5、8、12 及び 24 時間後の計 9 時点（雌雄各 3 例／群を使用）で行った。

死亡及び一般状態の変化はみられなかった。トキシコキネティクス値について表 2.6.6-3 に示した。

表 2.6.6-3　ラット 2 週間反復投与時におけるトキシコキネティクス値

	300 mg/kg				600 mg/kg（300 mg/kg×2）			
	C_{max}（ng/mL）		AUC_{0-24h}（ng·h/mL）		C_{max}（ng/mL）		AUC_{0-24h}（ng·h/mL）	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
AJM300	189	534	1760	2260	434	470	3040	3150
HCA2969	2980	5010	34800	25200	4680	5790	43600	52300
M-I	44.8	91.1	428	411	83.0	196	592	1300
M-II	784	828	9730	5390	1000	1290	10100	14100
HCA2969-gluc	332	1200	3110	6270	499	584	3810	4620

2.6.6.8.5.3　まとめ

ヒト主要代謝物（M-I、M-II 及び HCA2969-gluc）について、マウス及びラットの 2 週間反復投与時の血漿中 AUC と、薬物相互作用試験（AJM300/CP7）〔2.7.6.8 参照〕におけるヒト 2 週間反復投与時の血漿中 AUC とを比較した。結果を表 2.6.6-4 に示した。

表 2.6.6-4　ヒト主要代謝物の血漿中 AUC 比較

ヒト 主要代謝物	ヒト 2 週間反復[a] 960 mg/回 （1 日 3 回）	マウス 2 週間反復				ラット 2 週間反復			
		300 mg/kg		600 mg/kg		300 mg/kg		600 mg/kg	
		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
M-I	132.1	646	1260	1310	1360	428	411	592	1300
M-II	1322.0	9020	25500	16500	29200	9730	5390	10100	14100
HCA2969-gluc	8843.5	1990	2630	6920	3750	3110	6270	3810	4620

AUC 単位：ng·h/mL
a：薬物相互作用試験（AJM300/CP7）における投与 14 日目の値〔2.7.6.8 参照〕

（1）　M-I 及び M-II の安全性について

マウス及びラットに 300 及び 600 mg/kg を投与した時の M-I 及び M-II の AUC は、ヒトの M-I 及び M-II の AUC を超えていた。このことから、実施した AJM300 の毒性試験において M-I 及び M-II の安全性は評価されていると考えた。

（2）　HCA2969-gluc の安全性について

「医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験の実施についてのガイダンス」に関する質疑応答集（Q&A）について（平成 24 年 8 月 16 日事務連絡）では、動物での曝露量がヒトでみられた曝露量の少なくとも 50%以上あれば、一般に、代謝物の毒性の特徴づけは十分になされていると考えられる、と記載されている。

マウスに 600 mg/kg、ラットに 300 及び 600 mg/kg を投与した時の HCA2969-gluc の血漿中 AUC は、ヒトの HCA2969-gluc の血漿中 AUC の 50%（4421.8 ng·h/mL）とほぼ同等もしくはそれ以上であった。毒性評価において、300 mg/kg はラットの生殖発生毒性試験並びにラット及びマウスのがん原性試験における最高用量、600 mg/kg はラット 26 週間反復試験及びマウス生殖発生毒性試

験における最高用量である。このことから、HCA2969-gluc の毒性の特徴づけは、実施した AJM300 の反復投与毒性試験、生殖発生毒性試験及びがん原性試験で少なくとも 1 種の動物で十分になされていると考えた。

2.6.6.8.6　不純物の毒性試験

不純物の毒性試験は実施していない。

AJM300 の予定される 1 日最大臨床用量は 960 mg/回（1 日 3 回）である。原薬の不純物に関するガイドライン（平成 14 年 12 月 16 日、医薬審発第 1216001 号：新有効成分含有医薬品のうち原薬の不純物に関するガイドラインの改訂について）（平成 18 年 12 月 4 日、薬食審査発第 1204001 号：「新有効成分含有医薬品のうち原薬の不純物に関するガイドラインの改定について」の一部改定について）及び製剤の不純物に関するガイドライン（平成 15 年 6 月 24 日、医薬審発第 0624001 号：新有効成分含有医薬品のうち製剤の不純物に関するガイドラインの改定について）から、類縁物質の安全性確認の必要な閾値は、原薬については 0.05%、製剤については 0.15%と設定された。安全性の確認が必要とされる閾値以上の規格値が設定されている不純物は、　類縁物質C※　、HCA2969 及び M-I であった。

HCA2969 及び M-I は、それぞれ AJM300 の代謝物であり、いずれもヒト、ラット及びイヌの血漿中で共通にみられていることから、実施した毒性試験において安全性が評価されていると判断した。HCA2969 の安全性評価については考察及び結論（2.6.6.9 参照）で、M-I の安全性評価については代謝物の安全性評価（2.6.6.8.5 参照）で記載した。

類縁物質C※ は毒性試験で使用した原薬及び動物用製剤中に含まれている。反復試験及び生殖試験で使用した原薬及び動物用製剤中の類縁物質C※ 含量と、AJM300 の無毒性量から算出された類縁物質C※ の無毒性量を表 2.6.6-5 に示した。また、ヒトの推定類縁物質C※ 曝露量は、類縁物質C※ が規格値の上限（[redacted]%）まで原薬に含まれると仮定した場合、予定される 1 日最大臨床用量である 960 mg/回（1 日 3 回）から、最大で [redacted] mg/kg/day に相当する（960 mg/回 × 3 回/day / 60 kg × [redacted] = [redacted] mg/kg/day）。

類縁物質C※ の無毒性量とヒトの推定類縁物質C※ 曝露量とを比較した結果、類縁物質C※ の無毒性量はヒトの推定類縁物質C※ 曝露量以上であった。

※新薬承認情報提供時に置き換え

表 2.6.6-5　反復試験及び生殖試験で使用した原薬及び動物用製剤中の類縁物質C※ 含量並びに AJM300 の無毒性量から算出された類縁物質C※ の無毒性量

毒性試験		原薬及び動物用製剤のロット番号	類縁物質C※	
			ロット中の含量（含有%）	類縁物質C※ の無毒性量（mg/kg/day）
反復試験	ラット 4 週間	AJM02-1-2	0.04	0.40
	ラット 26 週間	FC2926BRCB[a]	0.08	0.48
	イヌ 4 週間	AJM02-2	0.05	0.20
	イヌ 13 週間	FC41006BRCB[a※1]	0.12	1.20
	イヌ 39 週間	FC2926BRCB[a]	0.08	0.80～1.40
		FTC2716BRCRB[a]	0.14	
生殖試験	ラット受胎能及び胚・胎児発生	FC2926BRCB[a]	0.08	0.24
	ラット出生前・後発生及び母体機能	FC41006BRCB[a※1]	0.12	0.36
	ウサギ胚・胎児発生	FC2926BRCB[a]	0.08	0.24[b] / 0.08[c]
	マウス受胎能及び初期胚発生	FC41006BRCB[a※2]	0.16	0.96
	マウス胚・胎児発生	FC41006BRCB[a※2]	0.16	0.96[d] / 0.096[e]

※1：1 回目の特性試験成績を元に GLP 試験を実施.
※2：2 回目の特性試験成績を元に GLP 試験を実施.
a：AJM300M1 製剤
b：母動物の生殖機能及び胚・胎児発生に対する無毒性量（300 mg/kg/day）より算出
c：母動物に対する一般毒性学的無毒性量（100 mg/kg/day）より算出
d：母動物に対する一般毒性学的無毒性量及び母動物の生殖機能に対する無毒性量（600 mg/kg/day）より算出
e：胚・胎児発生に対する無毒性量（60 mg/kg/day）より算出

また、遺伝毒性試験及びがん原性試験で使用した原薬及び動物用製剤中の類縁物質C※ 含量と、変異原性及び発がん性を示さなかった AJM300 の最高用量から算出された類縁物質C※ の用量を表 2.6.6-6 に示した。

類縁物質C※ の用量とヒトの推定類縁物質C※ 曝露量とを比較した結果、遺伝毒性試験については、細菌を用いる復帰突然変異試験、ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験において変異原性は認められず、小核試験において変異原性を示さなかった類縁物質C※ の用量はヒトの推定類縁物質C※ 曝露量以上であった。がん原性試験についても、発がん性を示さなかった類縁物質C※ の用量はヒトの推定類縁物質C※ 曝露量以上であった。

以上のことから、類縁物質C※ の安全性については確認されたと考え、新たな試験は実施しなかった。

表 2.6.6-6　遺伝毒性試験及びがん原性試験で使用した原薬及び動物用製剤中の類縁物質C※ 含量並びに変異原性及び発がん性を示さなかった AJM300 の最高用量から算出された類縁物質C※ の用量

毒性試験		原薬及び製剤のロット番号	類縁物質C※	
			ロット中の含量（含有%）	類縁物質C※ の用量（mg/kg/day）
遺伝毒性試験	復帰突然変異	AJM02-1-2	0.04	算出不可
	染色体異常	AJM02-1-2	0.04	算出不可
	ラット小核（高用量）	FC41006BRCB[a※1]	0.12	2.40
がん原性試験	ラット 13 週間（がん原性予備）	FTC26263RCRB[a]	0.14	0.42
	マウス 13 週間（がん原性予備）	FTC26263RCRB[a]	0.14	0.42
	ラットがん原性 マウスがん原性	FC41006BRCB[a※1]	0.12	0.27～0.36
		FC3312BRCB[a]	0.10	
		FC3312ARCB[a]	0.09	

※1：1 回目の特性試験成績を元に GLP 試験を実施.
a：AJM300M1 製剤

※新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.6.8.7　その他の試験

2.6.6.8.7.1　光毒性試験

光毒性試験は実施していない。

AJM300 は、波長 290～700 nm においてモル吸光係数が 1000 L mol^{-1} cm^{-1} を上回った。

しかしながら、ラット単回経口投与時の眼球及び皮膚中放射能濃度は投与 1 時間後（最初の組織試料採取時点）に最高濃度に到達し、血漿中放射能濃度の減少とともに速やかに減少した。投与 24 時間後には定量限界未満にまで減少した〔2.6.4.4.1.1 参照〕。イヌ単回経口投与時の眼球及び皮膚中放射能濃度は速やかに減少し、投与 24 時間後には、いずれも 30 分値の 15%以下にまで減少した〔2.6.4.4.1.3 参照〕。

以上のように、眼球への移行は低く、皮膚への残留性は認められなかったことから、AJM300 の光毒性について懸念はなく、更なる光毒性評価は必要ないと考えられた。

2.6.6.8.7.2　新規添加剤の安全性評価

AJM300 製剤に含有されるメチルセルロースは、1 日摂取量において医薬品添加物としての使用前例を上回ることから新添加物に該当するため、その安全性について考察した。

「医薬品添加物事典 2021（薬事日報社）」に収載されるメチルセルロースの経口投与での使用実績は 607.5 mg である。一方、本剤の申請製剤である 120 mg 錠には、1 錠中に[redacted]としてメチルセルロースを[redacted] mg 含有する。本剤の用法・用量から、120 mg 錠として 1 日 24 錠までの服用が起こりうる。この場合、メチルセルロースの 1 日最大使用量は[redacted] mg となり使用実績量を超える。ヒトの体重を 60 kg とすると、メチルセルロースの最大用量は[redacted] mg/kg となる。

（1）　実施した安全性試験

AJM300M1 製剤を投与した毒性試験では、プラセボ群として高用量群と同じ量のメチルセルロース及びクロスカルメロースナトリウムが投与されている。対照群（注射用水を投与）とプラセボ群とで 2 群間比較を行った試験及び遺伝毒性試験について表 2.6.6-7 に示した。

これらを参考に、医薬品添加物としての使用前例を上回る量のメチルセルロースを投与した際の安全性について評価を行った。

表 2.6.6-7　対照群とプラセボ群とで 2 群間比較を行った試験及び遺伝毒性試験

試験項目及び期間	動物種等	投与経路	投与量（mg/kg）	
			MC	CCS
反復投与毒性試験				
13 週間	マウス	経口	300	[redacted]
13 週間	ラット	経口	300	
26 週間	ラット	経口	600（300×2 回）	[redacted]（[redacted]×2 回）
13 週間	イヌ	経口	1000	
39 週間	イヌ	経口	1000	
遺伝毒性試験				
in vivo 小核試験	ラット	経口	2000（1000×2 回）	[redacted]（[redacted]×2 回）
生殖発生毒性試験				
胚・胎児発生	ラット	経口	300	[redacted]

MC 及び CSS の投与量算出には、AJM300M1 製剤に含有される AJM300、MC 及び CSS の割合としてより正確な値である[redacted]：[redacted]：[redacted]を用いた。MC：メチルセルロース、CCS：クロスカルメロースナトリウム